Journal of Plant Protection
Vol. 35, No. 3, Fall 2021, P. 333-345

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۰، ص. ۳۴۵-۳۳۳

مقاله پژوهشی

اثر قارچ *Beauveria bassiana* و نانوسیلیکا روی شته مومی کلم *Brevicoryne brassicae* و زنبور پارازیتوئید آن *Diaeretiella rapae* در شرایط آزمایشگاهی

ساناز امامی[۱]- شهرام آرمیده[۲]*- سجاد پیرسا[۳]- جی پی میچاود[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۲۰

چکیده

شته مومی کلم *Brevicoryne brassicae* یکی از آفات مهم و خسارت‌زای چلیپاییان است که در بسیاری از نقاط ایران فعال است و در طول دوره‌ی زمستان موجب ایجاد خسارت کمی و کیفی در زراعت گیاهان مذکور می‌شود. دشمنان طبیعی متعددی نظیر زنبور پارازیتوئید *Diaeretiella rapae* روی این شته فعالیت دارند. در سال‌های اخیر عوامل سازگار با محیط زیست به دلیل اثرات جانبی کمتر در کنترل آفات بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. این مطالعه برای تعیین تاثیر غلظت‌های مختلف (10^3، 10^4، 10^5، 10^6 و 10^7 اسپور بر میلی‌لیتر) قارچ *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. و نانوسیلیکا در غلظت‌های (۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm) به صورت جداگانه و توأم روی زنده‌مانی جمعیت شته مومی کلم و زنبور پارازیتوئید آن انجام شد. آزمایش‌ها در دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ و دوره نوری ۸: ۱۶ساعت (تاریکی: روشنایی) در آزمایشگاه انجام شد. مقادیر LC_{50} حاصل از تجزیه پروبیت در نتیجه تاثیر غلظت‌های مختلف قارچ بعد از گذشت ۷ روز و نانوسیلیکا طی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تیمار روی حشرات کامل شته مومی کلم به ترتیب برابر با $2/2\times10^5$ اسپور بر میلی‌لیتر و ۴۳۵۶/۱۴، ۱۱۶۴/۴۲ و ۴۸۷/۱۹ ppm بود، همچنین در نتیجه تاثیر غلظت‌های مختلف قارچ بعد از گذشت ۴ روز و نانوسیلیکا طی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تیمار روی زنبور پارازیتوئید به ترتیب $1/2\times10^6$ اسپور بر میلی‌لیتر و ۳۶۳۹/۷۹، ۶۱۹/۵۱ و ۲۸۹/۷۷ ppm بدست آمد. نتایج حاکی از حساسیت حشرات کامل شته مومی کلم به قارچ بود. کمترین زمان لازم برای مرگ ۵۰ درصد افراد جمعیت شته مومی کلم توسط قارچ در غلظت 10^7 اسپور بر میلی‌لیتر ۵/۰۲ روز محاسبه شد. میزان تلفات نانوسیلیکا ۷۲ ساعت پس از تیمار در بالاترین غلظت روی شته مومی کلم و زنبور پارازیتوئید به ترتیب۹۰ و ۹۶/۶۶ درصد برآورد شد. همچنین اختلاط این دو عامل در ۷۲ و ۱۲۰ ساعت پس از تیمار حشرات کامل شته مومی کلم و زنبور پارازیتوئید تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد داشت. بر اساس نتایج این تحقیق قارچ *B. bassiana* و نانوسیلیکا می‌توانند به عنوان عوامل مؤثر در برنامه مدیریت تلفیقی این شته مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: پارازیتوئید، شته مومی کلم، قارچ بیمارگر حشرات، کنترل غیرشیمیایی

مقدمه

شته مومی کلم، *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae) یکی از آفات مهم و کلیدی گیاهان تیره کلم در جهان می‌باشد. خسارت کمی و کیفی این گونه به دلیل رفتار تغذیه ای شته است که توانایی مکیدن شیره گیاهی از تمام اندام‌های هوایی گیاه میزبان را داشته و ناقل ۲۳ بیماری ویروسی از جمله ویروس موزاییک کلم (CaMV) و ویروس موزاییک شلغم (TuMV) می‌باشد (۳۹). تغذیه شته مذکور از شیره گیاهی موجب پیچیدگی و قاشقی شدن حاشیه برگ‌ها، ضعیف شدن بوته و پایین آمدن کیفیت و کمیت محصول و در نهایت از بین رفتن کامل بوته می‌شود (۳۴ و ۲۵). این آفت با ایجاد کلنی‌های بزرگ روی برگ‌ها، ساقه‌ها و جوانه‌ها ضمن مکیدن شیره گیاهی، بزاق خود را وارد گیاه میزبان می‌نماید که موجب ایجاد حلقه‌های نکروزه در اطراف محل‌های تغذیه‌ای می‌شود (۶). همچنین تجمع ترشحات عسلک و مواد مومی و بقایای پوست‌اندازی موجب اختلال در فتوسنتز و کاهش بازارپسندی محصول می‌شود. زنبور *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Braconidae) (McIntosh) یکی از مهمترین عوامل کنترل کننده بیولوژیک شته مومی کلم می‌باشد (۲۹) که به طور انحصاری پارازیتویید داخلی

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیاران دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: Sh.aramideh@urmia.ac.ir)
۴- استاد مرکز تحقیقات کشاورزی هی- دانشگاه کانزاس امریکا
DOI: 10.22067/JPP.2021.70807.1030

شته‌ها است (۳۶). این زنبور پلی‌فاژ بوده و روی ۹۸ گونه شته فعالیت دارد. زنبور *D. rapae* نقش بسزایی در کاهش خسارت شته‌ها روی محصولات تیره چلیپاییان دارد (۱۰). استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی روش اولیه و متداول کنترل شته‌ها می‌باشد (۳). مقاومت آفات به سموم شیمیایی و سمیت آن‌ها برای انسان و محیط زیست محققین را بر آن داشته تا امکان استفاده از روش‌های موثر و غیر شیمیایی را برای کنترل این شته مورد بررسی قرار دهند. یکی از این روش‌ها روش کنترل زیستی توسط قارچ‌های بیمارگر حشرات است. این قارچ‌ها معمولا در طبیعت موجب بیماری و تنظیم جمعیت حشرات می‌شوند (۱۵). این عوامل با ایجاد بیماری از راه تماس توانایی آلوده کردن میزبان در تمام مراحل زندگی را دارند. قارچ *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Ascomycota, Hypocreales) یکی از شناخته‌ترین قارچ‌های بیمارگر حشرات است (۳۸). دامنه میزبانی وسیع و متنوع موجب شده است که این قارچ به یکی از بهترین گونه‌های قارچ‌های بیمارگر برای کنترل آفات تبدیل گردد (۳۲). در آزمایشی تاثیر جدایه IRAN 429C از قارچ *B. bassiana* روی حشرات بالغ شته مومی کلم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که جدایه مذکور موجب ۵۴ تا ۸۳ درصد مرگ و میر در جمعیت این آفت شده است (۱). بررسی تاثیر جدایه‌هایی از قارچ‌های *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) و *B. bassiana* (Hypocreales: Cordycipitaceae) روی قدرت زنده‌مانی و تولید مثل شته *Aphis gossypii* (Glover) (Homoptera: Aphididae) نشان داد که تماس شته با اسپورهای هر دو قارچ مرگ و میر حشرات را به طور قابل توجهی افزایش داده است (۱۸). همچنین بیمارگری جدایه‌هایی از قارچ‌های *B. bassiana* و *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) (Hypocreales: Clavicipitaceae) روی حشرات کامل شته مومی کلم بررسی شد. نتایج نشان داد که با گذشت زمان درصد مرگ و میر نیز افزایش یافت (۱۳). امروزه استفاده از سموم مبتنی بر میکرو و نانو نیز به عنوان جایگزین مناسب برای سموم شیمیایی در کنترل حشرات جایگاه ویژه‌ای پیدا کرده است (۱۹). هدف از فرمولاسیون حشره‌کش‌ها در مقیاس میکرو و نانو کنترل رهایش ماده موثر آن‌ها، افزایش پایداری در شرایط انباری، حفاظت از اثرات نامطلوب زیست‌محیطی حشره‌کش‌ها و کاهش سمیت آن‌ها روی پستانداران گونه‌های غیرهدف و حشرات مفید می‌باشد (۴۰). حشره‌کش‌های نانو در مبارزه علیه آفات و ناقلین بیماری‌ها عملکرد بهتری نسبت به انواع حشره‌کش‌های معمولی داشته‌اند و به همین دلیل از لحاظ پزشکی، بهداشتی و اقتصادی جایگاه ویژه‌ای پیدا کرده‌اند (۱۴). برخی از نانوذرات فلزی، غیرفلزی و اکسید فلزی دارای اثر حشره‌کشی می‌باشند. نانوذرات مزبور با حمله به سلول‌های لارو حشره موجب تغییر شکل و مرگ آن‌ها می‌شوند. از جمله این ذرات می‌توان به نانوذرات سیلیس اشاره کرد. استفاده از سیلیس برای کنترل حشرات روی محصولات کشاورزی هیچ گونه باقیمانده‌ای روی محصول و محیط زیست پیرامون ندارد و به همین دلیل می‌تواند جزو مدیریت تلفیقی آفات و بیماری‌ها محسوب شود (۱۲ و ۲۳). مکانیسم کنترل آفات با نانوسیلیکا بر این مبنا می‌باشد که این ماده توسط لیپیدهای کوتیکولی جذب و به صورت فیزیکی موجب مرگ حشره می‌شود (۷). در یک تحقیق تأثیر ذرات نانوسیلیکا و نانونقره روی آفت *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae) بررسی شد. نتایج حاکی از آن بود که این مواد ۷۵ تا ۱۰۰ درصد مرگ و میر در غلظت حداکثر در جمعیت حشرات مذکور دارند (۳۳). در بررسی دیگری ذرات نانوسیلیکا تا ۹۰ درصد سبب مرگ و میر در جمعیت *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) شد (۸). علاوه بر این، به نظر می‌رسد نانوسیلیکا اثر حشره‌کشی خوبی روی *Aphis gossypii* و *Phenacoccus solenopsis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) دارد (۲۸).

هدف از انجام این تحقیق تخمین مقادیر LC_{50} و LT_{50} قارچ *B. bassiana*، نانوذرات سیلیس و اثر ترکیبی آن‌ها روی شته مومی کلم و پارازیتوئید آن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پرورش گیاه میزبان

به منظور تأمین گیاه مورد نظر جهت پرورش شته مومی کلم به طور دایم حدود ۵۰ گلدان کلم قرمز در شرایط گلخانه با دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد و دوره نوری ۸: ۱۶ (تاریکی: روشنایی) کشت شد.

پرورش حشرات

پرورش شته مومی کلم: جهت پرورش حشرات طی بازدیدهای دوره‌ای و مداوم از مزارع کلم شهرستان ارومیه نمونه‌های مورد نظر جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. بعد از شناسایی آنها در سطح گونه، روی گیاهان رهاسازی و تکثیر داده شدند. همچنین روی گلدان‌ها استوانه‌هایی (قطر ۲۶ و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر) از جنس طلق شفاف که در یک طرف آن پارچه توری جهت تهویه تعبیه شده است، قرار داده شد.

پرورش زنبور *D. rapae*: به منظور پرورش زنبور، شته‌های مومیایی شده از مزارع کلم شهرستان ارومیه با دقت با قلم‌مو جمع‌آوری و به داخل اتاقک رشد منتقل و درون پتری‌ها نگهداری شدند. روی درب پتری‌ها به منظور ایجاد تهویه کافی سوراخی پوشانده شده توسط توری ارگانزا ایجاد شد که تا در صورت خروج

زنبورهای کامل از شته‌ها از فرار آنها جلوگیری شود. شته‌های مومیایی تا زمان تفریخ و خروج زنبور در اتاقک رشد با دمای ۲±۲۵ درجه سیلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد و دوره نوری ۸ : ۱۶ (تاریکی: روشنایی) نگهداری شدند و پس از خروج، زنبورها شناسایی و جهت ایجاد نسل آزمایشگاهی وارد گلخانه شدند و درون قفس‌های ویژه پرورش زنبور پارازیتوئید (۴۰×۴۰×۴۰ سانتی‌متر) روی شته قرار گرفتند. زنبورها به صورت روزانه بوسیله آب عسل ۱۰ درصد تغذیه شدند.

تهیه وکشت قارچ *B. bassiana*

برای انجام آزمایشات از جدایه DEBI010 قارچ *B. bassiana* تهیه شده از مرکز تحقیقات کشاورزی تهران، استفاده شد. برای کشت جدایه و بدست آوردن اسپور به منظور آلوده‌سازی شته‌ها از محیط کشت Sabouraud Dextrose Agar (SDA) استفاده شد. بعدازکشت قارچ روی محیط کشت ذکرشده، ظروف پتری به مدت دو هفته در انکوباتور با دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس و در تاریکی قرار داده شد تا اسپورزایی قارچ به اندازه کافی انجام گیرد (۳۰). تمام مراحل کشت در زیر هود لامینار در شرایط استریل انجام شد. پتری‌های مذکور روزانه بررسی شده و در صورت وجود هر گونه آلودگی حذف شدند.

تهیه سوسپانسیون قارچ

محیط‌های کشت حاوی قارچ که اسپورزایی آن‌ها به حد کافی انجام شده بود انتخاب و اسپورها توسط اسکالپل استریل از سطح محیط کشت خراش داده شدند. سپس، به داخل لوله‌های آزمایش حاوی آب مقطر استریل به‌همراه ۰/۰۵ درصد ®Tween-80 منتقل و به صورت سوسپانسیون در آمدند. درب لوله‌ها توسط پارافیلم بسته و لوله‌ها به مدت پنج دقیقه بخوبی تکان داده شدند. سپس، از چند لایه پارچه ململ عبور داده شدند تا میسیلیوم‌ها و قطعات محیط کشت حذف شوند. برای تعیین تراکم اسپوری از لام گلبول‌شمار نئوبار استفاده و غلظت مورد نظر اسپوری با افزودن مقدار مشخص آب مقطر استریل به داخل سوسپانسیون اصلی تهیه شد (۳۸). جوانه‌زنی کنیدی‌ها قبل از زیست‌سنجی تعیین شد.

تهیه نانوسیلیکا

نانوذرات سیلیسیم دی اکسید (SiO_2) ساخته شده توسط شرکت پیشگامان (®Pishgamannano) با قطر متوسط ذرات ۳۰-۲۰ نانومتر و خلوص بیش از ۹۹ درصد برای انجام آزمایش‌ها تهیه شد.

بررسی تأثیر نانوسیلیکا بر جوانه‌زنی اسپور قارچ *B. bassiana*

غلظت‌های ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm در شرایط استریل به پتری‌دیش‌های محتوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت SDA با پنج تکرار اضافه شد. سپس، یک قطره سوسپانسیون $1×10^5$ اسپور بر میلی‌لیترقارچ روی محیط‌های کشت SDA حاوی غلظت‌های مختلف نانوسیلیکا پخش شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس و در تاریکی قرار گرفتند. از محیط‌های کشت SDA فاقد نانوسیلیکا به عنوان شاهد استفاده شد. پس از این مدت نمونه‌ای از محیط برداشته و در زیر میکروسکوپ با عدسی چشمی ۴۰× تعداد ۵۰ تا ۱۰۰ عدد اسپور شمارش شد. اسپورهایی که طول تندش آن‌ها از نصف طول اسپور بیشتر بود به عنوان جوانه‌زده در نظر گرفته شدند.

زیست‌سنجی نانوسیلیکا روی شته مومی کلم و زنبور *D. rapae*

به منظور ارزیابی اثرکشندگی نانوسیلیکا روی شته‌ها، طی آزمایشات مقدماتی غلظت‌هایی که بین ۲۵ تا ۷۵ درصد تلفات روی شته‌ها ایجاد کردند، مشخص و مابین این دو غلظت سه غلظت به روش لگاریتمی تعیین شد. پنج غلظت به همراه تیمار شاهد (آب مقطر) به روش غوطه‌وری دیسک برگی در محلول‌های مورد نظر استفاده شد (۲۰) بدین ترتیب که برای هر غلظت ۱۰ عدد شته‌ی بالغ یک روزه با یک قلم‌موی نرم به صورت کاملاً تصادفی از کلونی برداشته و روی دیسک‌های برگی آلوده به نانوذره قرار داده شد. آزمایش‌ها در دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ و دوره نوری ۸: ۱۶ ساعت (تاریکی: روشنایی) در آزمایشگاه انجام شد. مرگ و میر پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بررسی شد. شته‌های که در صورت تحریک با سوزن پس از گذشت پنج ثانیه قادر به حرکت نبودند، مرده در نظر گرفته شدند.

برای زیست‌سنجی حشرات کامل زنبور پارازیتوئید *D. rapae* از روش کاربرد غیرمستقیم حشره‌کش‌ها استفاده شد (۹). در این روش از استوانه‌های شیشه‌ای به قطر ۶ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر استفاده شد. آزمایش‌های مقدماتی برای تعیین حدود غلظت‌های موثر نانوسیلیکا انجام گرفت. سطح داخلی هر استوانه با ۱۵۰ میکرولیتر از هر غلظت نانوسیلیکا و آب مقطر به عنوان شاهد آغشته شد. یک ساعت بعد از خشک شدن در معرض هوا، تعداد ۱۰ عدد زنبور ماده که کمتر از ۱۲ ساعت عمر دارند در هر استوانه رهاسازی شدند. برای تهویه، دهانه هر استوانه توسط پارچه ارگانزا پوشیده شد. جهت تغذیه زنبورها یک نوار کوچک روغنی آغشته به محلول آب و عسل استفاده شد. آزمایش‌ها در دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ و دوره نوری ۸: ۱۶ ساعت (تاریکی: روشنایی) در آزمایشگاه انجام شد. ۲۴ ساعت بعد از معرفی زنبورها، تعداد تلفات شمارش شد.

زیست‌سنجی قارچ *B. bassiana* روی شته مومی کلم و زنبور *D. rapae*

به منظور زیست‌سنجی قارچ روی شته، طی آزمایشات مقدماتی غلظت‌هایی که بین ۲۵ تا ۷۵ درصد تلفات روی شته‌ها ایجاد کردند، مشخص و مابین این دو غلظت سه غلظت به روش لگاریتمی تعیین شد. پنج غلظت به همراه تیمار شاهد (آب مقطر) در آزمایشات استفاده شد. بعد از تهیه غلظت‌های مورد نظر، شته‌ها به مدت ۱۰ ثانیه در سوسپانسیون‌های مربوطه غوطه‌ور شده و بعد از آن روی برگ‌های کلم منتقل شدند (۳۵). حشرات تیمار شده به مدت ۱ دقیقه روی کاغذ صافی قرار داده شدند تا مقدار اضافی محلول حذف شود (۲۴). داخل هر ظرف (قطر هشت سانتی‌متر و عمق یک سانتی‌متر) پنبه‌ای استریل و مرطوب به همراه کاغذ صافی در کف ظرف، جهت تامین رطوبت برگ‌ها و نگهداری شته‌ها قرار داده شد. آزمایش‌ها در دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ و دوره نوری ۸: ۱۶ ساعت (تاریکی: روشنایی) در آزمایشگاه انجام شد. ارزیابی آلودگی و یا بیماری‌زایی روی شته‌ها بعد از گذشت ۲۴ ساعت تا ۱۰ روز ادامه یافت. شته‌هایی که مشکوک به آلودگی بودند و با نزدیک کردن سوزن به بدن آن‌ها حرکتی نداشتند جمع شده و در درون ظروف پتری حاوی کاغذ صافی استریل خیس شده قرار داده شدند و مجموعه به انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شد. بعد از آن تشتک‌ها هر روز بررسی و در صورت وجود پوشش قارچی در سطح حشرات بعنوان آلوده شده توسط قارچ محاسبه شدند (۲۲). برای هر تیمار (غلظت‌های $۱۰^۷$،$۱۰^۶$،$۱۰^۵$،$۱۰^۴$،$۱۰^۳$اسپور بر میلی‌لیتر) به همراه شاهد (آب مقطر حاوی ۰/۰۵ درصد Tween®-80) روی حشرات کامل شته مومی کلم انجام شد.

برای زیست‌سنجی قارچ روی زنبور *D. rapae*، ۱۰ عدد زنبور هم‌سن ماده بالغ یک روزه به صورت تصادفی با شش تکرار روی شته‌های مومی بالغ یک روزه آلوده به غلظت‌های ($۱۰^۳$، $۱۰^۴$، $۱۰^۵$، $۱۰^۶$، $۱۰^۷$ اسپور بر میلی‌لیتر) قارچ، محصور در یک پتری (قطر هشت سانتی‌متر و عمق یک سانتی‌متر) حاوی کاغذ صافی، رهاسازی شدند (۵). داخل هر پتری پنبه‌ای استریل و مرطوب جهت تامین رطوبت قرار داده شد. در تیمار شاهد از آب مقطر حاوی ۰/۰۵ درصد توئین ۸۰ (Tween®-80) استفاده شد. پتری‌ها به مدت دو ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند. پس از آن درب پتری‌ها بسته شده و در انکوباتور در دمای ۲±۲۵ درجه سیلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد قرار داده شدند و تعداد حشرات تلف شده پس از ۲۴ ساعت شمارش شد. همچنین در این مدت آب و عسل در اختیار زنبورها قرار گرفت.

اثر اختلاط نانوسیلیکا و قارچ *B. bassiana* روی شته مومی کلم و زنبور *D. rapae*

این آزمایش به منظور ارزیابی تاثیر اختلاط نانوسیلیکا و قارچ *B. bassiana* روی مرگ و میر حشرات کامل یک روزه شته مومی کلم و زنبور *D. rapae* به طور جداگانه طراحی شد. آزمایش‌ها در دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ و دوره نوری ۸: ۱۶ ساعت (تاریکی: روشنایی) در آزمایشگاه انجام شد. این آزمایش در چهار تیمار مختلف، شامل غلظت LC_{50} قارچ *B. bassiana*، غلظت LC_{50} نانوسیلیکا، اختلاط غلظتLC_{25} قارچ با غلظت LC_{25} نانوسیلیکا و تیمار شاهد (آب مقطر حاوی ۰/۰۵ درصد Tween®-80) در شش تکرار انجام شد. در هر تکرار ۱۰ عدد حشره بالغ شته مومی کلم و زنبور پارازیتوئید تیمار شدند. میزان تلفات ۲۴، ۷۲ و ۱۲۰ساعت پس از تیمار شمارش شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

زیست‌سنجی در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. تجزیه پروبیت داده‌های تلفات با استفاده از نرم‌افزار IBM SPSS Statistics 22 انجام شد. برای محاسبه LC_{50} و LT_{50} از گزینه پروبیت در نرم‌افزار استفاده شد. جهت مقایسه میانگین تیمارها از آزمون توکی در سطح اطمینان ۹۵ درصداستفاده شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel-2016 استفاده شد.

نتایج

تأثیر نانوسیلیکا بر جوانه‌زنی اسپور قارچ *B. bassiana*

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه آماری، درصد جوانه‌زنی اسپور قارچ در تیمارهای ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۱).

تأثیر نانوسیلیکا روی شته مومی کلم و زنبور پارازیتوئید *D. rapae*

نتایج زیست‌سنجی نانوسیلیکا بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت روی حشرات کامل شته مومی کلم و زنبور پارازیتوئید مطابق جدول ۲ برآورد شد. مقادیر LC_{50} حاصل از تجزیه پروبیت نانوسیلیکا برای شته مومی کلم برابر با ۴۳۵۶/۱۴، ۱۱۶۴/۴۲ و ۴۸۷/۱۹ ppm و برای زنبور پارازیتوئید ۳۶۳۹/۷۹، ۶۱۹/۵۱ و ۲۸۹/۷۷ ppm بود (جدول ۲). مقایسه درصد تلفات حشرات کامل شته مومی کلم و زنبور پارازیتوئید بوسیله نانوسیلیکا در شکل ۱ نشان داده شده است. کمترین مدت زمان لازم برای تلفات ۵۰٪ از جمعیت مورد آزمایش برای نانوسیلیکا علیه شته مومی کلم و زنبور پارازیتوئید به ترتیب ۱/۵۱ و ۱/۲۴ روز بود (جدول ۳).

جدول ۱- میانگین (±SE) درصد جوانه‌زنی اسپورهای قارچ *Beauveria bassiana* تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نانوسیلیکا طی ۲۴ ساعت پس از تیمار

Table 1- Mean (±SE) spore germination percentage of *Beauveria bassiana* affected by different concentrations of nanosilica, 24 hours after treatment

غلظت نانوسیلیکا در محیط کشت SDA (ppm) Concentration of nanosilica in SDA medium (ppm)	درصد جوانه‌زنی±خطای استاندارد Germination percentage (±SE)
Control	91.6± 1.8 [a]
125	91.2± 2.1[a]
250	89.2± 3.1 [a]
500	88.0± 1.1 [a]
1000	86.8± 1.5 [a]
2000	81.6± 2.2 [a]

Values with different letters have a significant difference at 5% level using Tukey's test

جدول ۲- تجزیه پروبیت حاصل از تاثیر غلظت‌های مختلف نانوسیلیکا طی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت روی حشرات کامل شته مومی کلم و زنبور پارازیتوئید *Diaeretiella rapae*

Table 2- Probit analysis data of cabbage aphid adults and parasitoid wasp *Diaeretiella rapae* treated with nanosilica 24, 48 and 72 hours after treatment

حشره Insect	زمان Time	Slop± SE	Intercept	X^2 (df)	LC_{50} (95% CLs)	LC_{25} (95% CLs)
شته مومی کلم *Brevicoryne brassicae*	24 Hours	1.69±0.34	-6.17±1.04	1.6(3)	4356.14 (2668.13-12455.28)	1244.34 (1279.47-2938.94)
	48 Hours	1.84±0.22	-5.65±0.65	0.3(3)	1164.42 (935.0-1544.80)	501.70 (390.41-618.86)
	72 Hours	2.54±0.23	-6.68±0.65	2.53(3)	487.19 (414.44-571.51)	260.79 (207.40-312.56)
زنبور پارازیتوئید *Diaeretiella rapae*	24 Hours	1.41±0.26	-5.04±0.76	0.71(3)	3639.79 (2256.44-9182.51)	1216.14 (894.33-1856.00)
	48 Hours	1.73±0.20	-4.85±0.56	2.46(3)	619.51 (503.31-774.13)	253.58 (183.57-322.00)
	72 Hours	2.50±0.25	-6.15±0.66	4.33(3)	289.77 (241.68-340.76)	155.72 (117.83-191.54)

تأثیر قارچ *B. bassiana* روی شته مومی کلم و زنبور پارازیتوئید *D. rapae*

نتایج زیست‌سنجی قارچ *B. bassiana* بعد از گذشت هفت روز برای حشرات کامل شته مومی کلم و بعد از گذشت چهار روز برای زنبور پارازیتوئید مطابق جدول ۴ برآورد شد. مقادیر LC_{50} حاصل از تجزیه پروبیت قارچ *B. bassiana* برای حشرات کامل شته مومی کلم و زنبور پارازیتوئید به ترتیب ۱۰^۵×۲/۲ و ۱۰^۶×۱/۲ اسپوربرمیلی‌لیتر بود (جدول ۴). مقایسه درصد تلفات حشرات کامل شته مومی کلم و زنبور پارازیتوئید بوسیله قارچ *B. bassiana* به ترتیب در شکل ۲ نشان داده شده است. کمترین مدت زمان لازم برای تلفات ۵۰٪ از جمعیت مورد آزمایش برای قارچ *B. bassiana* علیه حشرات کامل شته مومی کلم و زنبور پارازیتوئید به ترتیب ۵/۰۲ و ۲/۸۶ روز بود (جدول ۵). این نتایج حاکی از زهرآگینی بالای این قارچ روی حشرات مذکور و رابطه‌ی مستقیم نرخ مرگ و میر با غلظت اسپور بود.

اثر اختلاط نانوسیلیکا و قارچ *B. Bassiana* روی شته مومی کلم و زنبور *D. rapae*

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تلفات تیمارهای قارچ (LC_{50}, *B. bassiana*)، نانوسیلیکا (LC_{50}, Nanosilica)، ترکیب قارچ با نانوسیلیکا (LC_{25}, *B. bassiana*, Nanosilica+LC_{25}) و تیمار شاهد روی حشرات کامل شته مومی کلم و زنبور *D. rapae* بعد از ۲۴، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت به ترتیب نشان داد که با اطمینان ۹۵ درصد بین تیمارها از نظر کشندگی اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بیشترین و کمترین نرخ مرگ و میر در تیمار نانوسیلیکا (LC_{50}, Nanosilica) و تیمار شاهد (آب مقطر) مشاهده شد (شکل ۳).

جدول ۳- مقادیر LT_{50} (بر حسب روز) نانوسیلیکا علیه حشرات کامل شته مومی کلم و زنبور پارازیتوئید *Diaeretiella rapae*

Table 3- LT_{50} values (days) of nanosilica against cabbage aphid adults and parasitoid wasp *Diaeretiella rapae*

حشره Insect	غلظت Concentration (ppm)	Slop± SE	Intercept	X^2 (df)	LT_{50} (95% CLs)
شته مومی کلم *Brevicoryne brassiace*	125	2.42± 1.55	-2.73 ± 0.63	0.56 (1)	13.59 (7.01-16.11)
	250	2.97 ± 0.88	-2.15 ± 0.34	0.01 (1)	5.31 (3.75 – 17.55)
	500	3.78 ± 0.67	-1.72 ± 0.25	0.41 (1)	2.86 (2.48 – 3.54)
	1000	3.66 ± 0.55	-0.99 ± 0.18	2.26 (1)	1.87 (0.71-3.22)
	2000	3.96 ± 0.55	-0.71 ± 0.16	0.59 (1)	1.51 (1.31 – 1.70)
زنبور پارازیتوئید *Diaeretiella rapae*	125	2.03 ± 0.33	-1.86 ± 0.88	0.25 (1)	12.31 (5.17 – 15.33)
	250	3.49 ± 0.64	-1.58 ± 0.23	0.22 (1)	2.85 (2.46 – 3.60)
	500	4.09 ± 0.60	-1.36 ± 0.20	0.92 (1)	2.15 (1.91 – 2.45)
	1000	3.93 ± 0.55	-0.73 ± 0.17	0.94 (1)	1.52 (1.32 – 1.72)
	2000	4.62 ± 0.62	-0.44 ± 0.16	0.11 (1)	1.24 (1.07 – 1.40)

جدول ۴- تجزیه پروبیت حاصل از تاثیر غلظت‌های مختلف قارچ *Beauveria bassiana* بعد از گذشت هفت روز برای حشرات کامل شته مومی کلم و بعد از گذشت چهار روز برای زنبور پارازیتوئید *Diaeretiella rapae*

Table 4- Probit analysis data of cabbage aphid adults 7 days after treatment and parasitoid wasp *Diaeretiella rapae* 4 days after treatment with fungus *Beauveria bassiana*

حشره Insect	زمان Time	Slop± SE	Intercept	X^2 (df)	LC50 (95% CLs)	LC25 (95% CLs)
شته مومی کلم *Brevicoryne brassicae*	7 Days	0.42±0.05	-2.25±0.30	2.94(3)	2.2×10^5 (9.5×10^4-5.5×10^5)	5.5×10^3 (1.2×10^3-1.4×10^4)
زنبور پارازیتوئید *Diaeretiella rapae*	4 Days	0.34±0.05	-2.12±0.30	3.80(3)	1.2×10^6 (4.2×10^5-5.6×10^6)	1.4×10^4 (2.8×10^3-4.1×10^4)

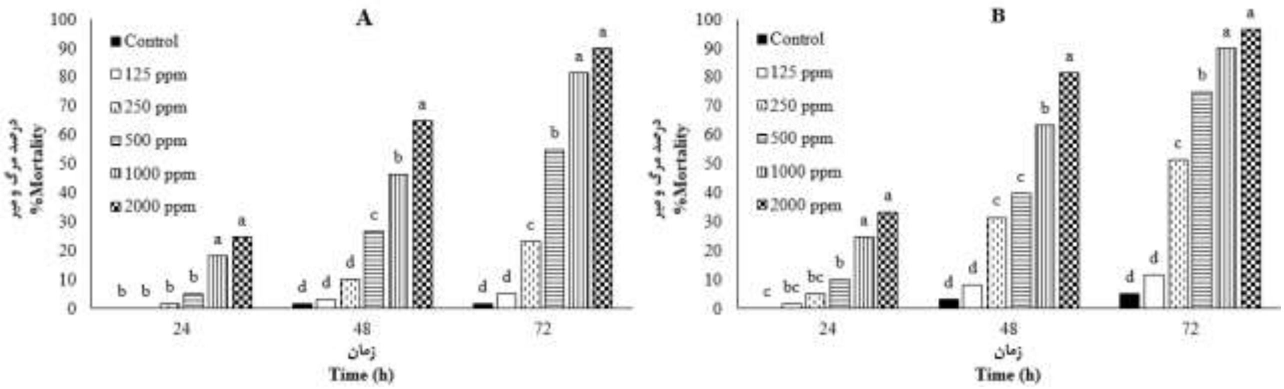
بحث

با توجه به رشد روزافزون جمعیت بشر، تلاش برای یافتن روش‌های افزایش تولید مواد غذایی و کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی بیشتر شده است. از طرف دیگر این روش‌ها باید بر اساس موازین علمی و حساب شده انجام گیرد تا به زیست بوم آسیبی نرساند و در عین حال بتواند از رشد انبوهی جمعیت آفات و جانوران مضر جلوگیری کند (۲۷). استفاده از عوامل بیولوژیک و نانوذرات فلزات نه تنها عوارض ناشی از آفت‌کش‌ها را ندارد بلکه با کاهش جمعیت آفات مانع از رسیدن جمعیت آن به سطح زیان اقتصادی می‌شود. محققین مختلفی تاثیر قارچ‌های بیماگر حشرات را روی شته‌ها بررسی کرده‌اند. در یک تحقیق اثر بیمارگری جدایه IRAN 429C قارچ *B. bassiana* علیه حشرات کامل شته مومی کلم بررسی شد (۱). نتایج نشان داد که پایین‌ترین غلظت کشنده برای مرگ نیمی از جمعیت، ۱۰^۵×۲/۰۴ اسپور بر میلی‌لیتر بود وکمترین زمان لازم برای مرگ ۵۰ درصد جمعیت در بالاترین غلظت ۷/۶۷ روز بود (۱) که تاثیر مطلوب آن با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت داشت. در بررسی آلودگی طبیعی شته‌های غلات به قارچ‌های بیمارگر حشرات، جدایه SGBB8601 از قارچ *B. bassiana* بیمارگری نسبتاً بالایی روی شته‌های غلات ازجمله شته روسی گندم نشان داد (۱۶) که با نتایج تحقیق حاضر مبنی بر خاصیت حشره‌کشی قارچ *B. bassiana* روی شته‌ها مطابقت دارد.

جدول ۵- مقادیر LT_{50}(بر حسب روز) قارچ *Beauveria bassiana* علیه حشرات کامل شته مومی کلم و زنبور پارازیتوئید *Diaeretiella rapae*

Table 5- LT_{50} values (days) of the fungus *Beauveria bassiana* against cabbage aphid adults and parasitoid wasp *Diaeretiella rapae*

حشره Insect	غلظت Concentration (Spore/ml)	Slop± SE	Intercept	X^2 (df)	LT_{50} (95% CLs)
شته مومی کلم *Brevicoryne brassicae*	10^3	4.61 ± 1.11	-4.70 ± 0.85	0.69 (5)	10.41 (8.41 – 18.32)
	10^4	4.24 ± 0.87	-4.19 ± 0.65	0.15 (5)	9.74 (8.07 – 14.73)
	10^5	4.27 ± 0.69	-3.86 ± 0.50	1.10 (5)	8.04 (7.05 – 10.09)
	10^6	3.40 ± 0.44	-2.74 ± 0.30	0.59 (5)	6.42 (5.74 – 7.52)
	10^7	4.03 ± 0.42	-2.83 ± 0.28	10.27 (5)	5.02 (4.31 – 6.12)
زنبور پارازیتوئید *Diaeretiella rapae*	10^3	2.86 ± 0.47	-2.49 ± 0.30	2.37 (4)	7.41 (6.13 – 10.33)
	10^4	3.08 ± 0.45	-2.45 ± 0.28	2.89 (4)	6.24 (5.39 – 7.86)
	10^5	3.48 ± 0.43	-2.40 ± 0.26	10.66 (4)	5.07 (3.99 – 8.36)
	10^6	3.05 ± 0.35	-1.87 ± 0.21	1.62 (4)	4.10 (3.67 – 4.65)
	10^7	4.12 ± 0.37	-1.88 ± 0.20	14.78 (4)	2.86 (2.10 – 3.67)

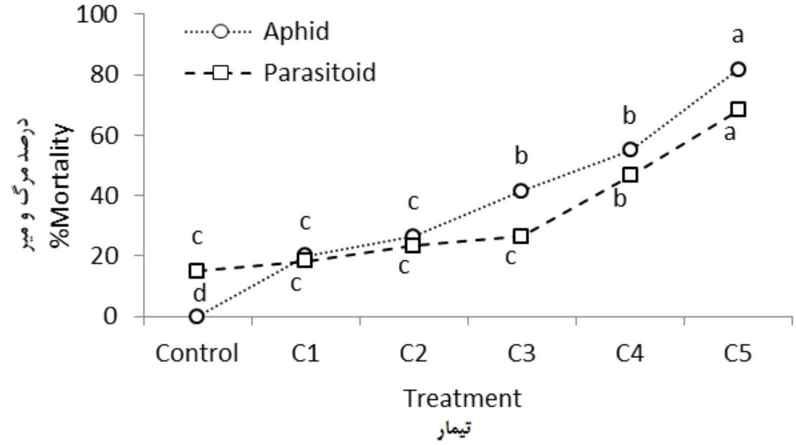


شکل ۱- میانگین درصد تلفات حشرات کامل شته مومی کلم (A) و زنبور پارازیتوئید *Diaeretiella rapae* (B) بوسیله غلظت‌های مختلف نانوسیلیکا

ستون‌های دارای حروف متفاوت با استفاده از آزمون توکی دارای اختلاف معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۵٪ هستند.

Figure 1- Mean mortality (%) of cabbage aphid adults (A) and parasitoid wasp *Diaeretiella rapae* (B) treated with different concentrations of nanosilica

Columns with different letters have a significant difference at 5% level using Tukey’s test

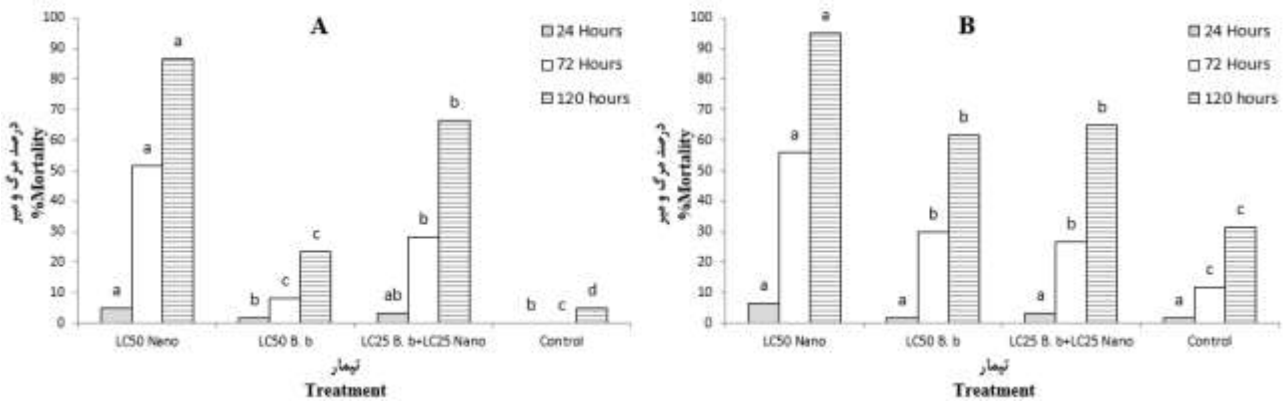


شکل ۲- میانگین درصد تلفات حشرات کامل شته مومی کلم و زنبور پارازیتوئید *Diaeretiella rapae* بوسیله غلظت‌های مختلف ($C1:10^3$, $C2:10^4$, $C3:10^5$, $C4:10^6$, $C5:10^7$ spore/ml) قارچ *Beauveria bassiana*

مقادیر دارای حروف متفاوت با استفاده از آزمون توکی دارای اختلاف معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۵٪ هستند.

Figure 2- Mean mortality (%) of cabbage aphid adults and parasitoid wasp *Diaeretiella rapae* treated with different concentrations ($C1:10^3$, $C2:10^4$, $C3:10^5$, $C4:10^6$, $C5:10^7$ spore/ml) of *Beauveria bassiana*

Values with different letters have a significant difference at 5% level using Tukey's test



شکل ۳- میانگین درصد تلفات حشرات کامل شته مومی کلم (A) و زنبور پارازیتوئید *Diaeretiella rapae* (B) بوسیله تیمارهای مختلف (LC_{50} nanosilica, LC_{50} *B. bassiana*, LC_{25} *B. bassiana*+LC_{25} nanosilica, control)

ستون‌های دارای حروف متفاوت با استفاده از آزمون توکی دارای اختلاف معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۵٪ هستند.

Figure 3- Mean mortality (%) of cabbage aphid adults (A) and parasitoid wasp *Diaeretiella rapae* (B) treated with different concentrations (LC_{50} nanosilica, LC_{50} *B. bassiana*, LC_{25} *B. bassiana*+LC_{25} nanosilica, control)

Columns with different letters have a significant difference at 5% level using Tukey's test

تحقیقات متعددی درباره اثربخشی قارچ‌های بیمارگر حشرات روی حشرات مختلف وجود دارد. دروسچنر و همکاران (۱۱) اثـر بیمـارگری جدایـــه SGBB601 از قـــارچ *B. bassiana* روی شـــته رازک *Phorodon humuli* (Schrank) (Homoptera: Aphididae) بررسی کرد و کمترین غلظت کشندگی ۵۰ درصد را $۱/۳۷×۱۰^{۵}$ اسپور بر میلی‌لیتر و کمترین LT_{50} را معادل ۶ روز به دست آوردند. در بحث بیمارگری قارچ‌های بیمارگر زمان نقش موثری دارد و هـر چـه مقـدار LT_{50} کمتر باشد، آن جدایه از لحاظ مبارزه بیولوژیک اهمیت بیشتری پیـدا مـی‌کنـد. نتـایج حاصـل از بررسـی بیمـارگری قـارچ‌هـای *B. bassiana*، *M. anisoplae* و *Isaria* sp. علیه حشرات کامـل شـته لوبیا چشم بلبلی نشان داد که تمام جدایه‌های مورد آزمایش علیه ایـن شته بیماری‌زا بوده و جدایه ICIPE 62 بیشترین میزان بیمـارگری را ایجاد کرده است. میزان LT_{50} بین ۳/۳ تا ۶/۳ روز متغییر بود و میزان LC_{50} این جدایه $۲/۳×۱۰^{۶}$ برآورد شد (۲۶). طی تحقیقات انجام شده توسط اکبری و همکاران (۲) در مورد تاثیر پنج قارچ بیمارگر حشـرات و سم ایمیداکلوپراید روی شته مومی کلم و زنبـور *D. rapae* پـایین-

ترین غلظت کشنده قارچ *Simplicillium* sp. برای مرگ نیمی از جمعیت شته مومی کلم و زنبور پارازیتوئید به ترتیب، ۴/۷×$۱۰^{۵}$ و۱/۷×$۱۰^{۵}$ اسپور بر میلی‌لیتر محاسبه شدکه با نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر مطابقت دارد. در یک تحقیق تاثیر قارچ‌های *B. bassiana* و *Metarhizium brunneum* (Petch) (Hypocreales: clavicipitaceae) روی زنبور پارازیتوئید *Trybliographa rapae* (Westwood) (Hymenoptera: Figitidae) مورد بررسی قرار گرفت و مقادیر LC_{50} برای قارچ *B. bassiana* و *M. brunneum* به ترتیب ۱/۸×$۱۰^{۷}$ و ۱/۵×$۱۰^{۷}$ اسپور بر میلی لیتر برآورد شد که همسو با نتایج حاصل از تحقیق حاضر بود (۳۱). در سال‌های اخیر کاربرد نانوتکنولوژی در مبارزه تلفیقی علیه آفات موجب کاهش چشم‌گیر مصرف سموم شیمیایی و استفاده بهینه از آن‌ها می‌شود. کاربرد کریستال‌های نانو امکان استفاده از آفت‌کش‌ها با دزهای کمتر را مهیا می‌سازد و این به معنی به حداقل رساندن ورود این ترکیبات مضر به محیط زیست می‌باشد. در یک بررسی از نانوذرات مس برای کنترل شته سبز هلو استفاده شد (۱۷). میزان مرگ و میر شته در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm به ترتیب ۲۶ و ۶۲ درصد بود و در بین غلظت‌های مختلف اختلاف معنی‌دار وجود داشت. همچنین درصد مرگ و میر شته با افزایش غلظت ذرات افزایش یافت (۱۷) که تاثیر مطلوب آن با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت داشت. نتایج حاصل از بررسی تاثیر نانوسیلیکا و قارچ *Penicillium* sp. در کنترل شته سبز هلو نشان داد که اختلاط قارچ مذکور با نانوسیلیکا و استفاده از نانوسیلیکا به تنهایی مرگ و میر این آفت را در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (۲۱). طی تحقیقات انجام شده توسطپاویترا و همکاران (۲۸) در مورد کارایی نانوسیلیکا برای کنترل شته پنبه نتایج زیست‌سنجی حاکی از آن بود که بالاترین میزان مرگ و میر شته‌ها در غلظت ۲۰۰۰ ppm است که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. علاوه بر این تیمار مرحله شفیرگی زنبور پارازیتوئید *Eretmocerus mundus* (Mercet) (Hymenoptera: Aphelinidae) با نانوذرات اکسید روی (Zno) نشان داد که این ذرات ۷۲ ساعت پس از تیمار، ۱۱/۲۳ درصد مرگ و میر در بین حشرات ایجاد نمودند (۳۷). در بررسی ما نیز درصد مرگ و میر زنبور در غلظت‌های پایین تفاوت معنی داری با شاهد نداشت. نتایج حاصل از زیست‌سنجی حشره‌کش پروتئوس روی زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) حاکی از آن بود که این حشره‌کش ۷۶/۶ درصد مرگ و میر در بین جمعیت مورد آزمایش ایجاد کرده است (۴). طبق نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر قارچ *B. bassiana* و نانوسیلیکا به طور موثری روی حشرات کامل *B. brassicae* بیماری‌زا بود و اعتقاد بر این است که می‌توان از این عوامل در مدیریت تلفیقی آفت مذکور استفاده نمود. هرچند تاثیرات زیست‌محیطی نانوسیلیکا نیاز به بررسی بیشتری دارد. به طور کلی زهرآگینی متفاوت جدایه‌های مختلف قارچی روی میزبان‌های مختلف و احتمال کاهش کارایی این قارچ‌ها در شرایط مزرعه‌ای در تصمیم‌گیری‌های کنترلی حائز اهمیت است. لذا مطالعات بیشتر جهت بررسی عوامل تاثیرگذار در بیمارگری و استفاده از فرمولاسیون‌های مختلف جهت افزایش شدت زهرآگینی قارچ ضروری می‌باشد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر، جهت حفظ زنبور پارازیتوئید در هنگام حداکثر ظهور دشمن طبیعی استفاده از تیمار قارچ و در هنگام حداکثر ظهور آفت استفاده از هر دو تیمار قارچ و نانوسیلیکا پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه ارومیه در قالب پایان‌نامه دکتری انجام شده است که بدین‌وسیله تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Akbari S., Safavi S.A., and Ghosta Y. 2014. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Against Cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* L. (Hem.: Aphididae) in laboratory condition. Archives of Phytopathology and Plant Protection 47(12): 1454-1458.
2. Akbari S., Mirfakhraie S., Aramideh S., and Safaralizadeh M.H. 2020. Effect of fungal isolates and imidacloprid on cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* and its parasitoid *Diaeretiella rapae*. Zemdirbyste-Agriculture 107(3): 255-262.
3. Al Antary T.M., Ateyyat M.A., and Abussamin B.M. 2010. Toxicity of certain insecticides to the parasitoid *Diaeretiella rapae* (McIntosh) (Hymenoptera: Aphidiidae) andits host, the cabbage aphid *Brevicoryne Brassicae* L. (Homoptera: Aphididae). Australian Journal of Basic and Applied Sciences 4(6): 994-1000.
4. Jarrahi A., and Safavi S.A. 2016. Effects of pupal treatment with Proteus® and *Metarhizium anisopliae* sensu lato on functional response of *Habrobracon hebetor* parasitising *Helicoverpa armigera* in an enclosed experiment system. Biocontrol Science and Technology 26(2): 206-216.
5. Jarrahi A., and Safavi S.A. 2016. Sublethal effects of *Metarhizium anisopliae* on life table parameters of *Habrobracon hebetor* parasitizing *Helicoverpa armigera* larvae at different time intervals. Biocontrol 61: 167-175.
6. Blackman R.A., and Eastop V.F. 1984. Aphis on the Worlds Crops. John Wiley and Sons, New York. 466 pp.

7. De A., Bose R., Kumar A., and Mozumdar S. 2014. Management of insect pests using nanotechnology: as modern approaches. In Targeted delivery of pesticides using biodegradable polymeric nanoparticles (pp. 29-33). Springer, New Delhi.
8. Debnath N., Das S., Seth D., Chandra R., Bhattacharya S.C., and Goswami A. 2011. Entomotoxic effect of silica nanoparticles against *Sitophilus oryzae* (L.). Journal of Pest Science 84(1): 99-105.
9. Desneux N., Rafalimanana H., and Kaiser L. 2004. Dose-response relationship in lethal and behavioral effects of different insecticides on the parasitic wasp *Aphidiuservi*. Chemosphere 54(5): 619-627.
10. Dhiman S.C. 2007. Population dynamics of *Diaeretiella rapae* (McIntosh): a parasitoid of mustard aphid, *Lipaphis erysimi* (Kalt). Journal of Applied Zoological Researches 18(2): 117-120.
11. Dorschner K.W., Feng M., and Baird C.R. 1991. Virulence of an aphid derived isolate of *Beauveria bassiana* (Fungi: Hyphomycetes) to the hop aphid, *Phorodon humuli* (Homoptera: Aphididae). Environmental Entomology 20(2): 690-693.
12. El-Bendary H.M., and El-Helaly A.A. 2013. First record nanotechnology in agricultural: Silica nano-particles a potential new insecticide for pest control. Applied Scientific Reports 4(3): 241-246.
13. Embaby E.E., and Lotfy D.E. 2016. Controlling cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae* L.) using isolated mycoinsecticides. Journal of Plant Protection and Pathology 7(1): 73-77.
14. Enayati A., and Ebrahimnejad P. 2012. Nanopesticides: Production, application and biological considerations. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences 21(86): 296-311. (In Persian with English abstract)
15. Ezz N. 2012. Entomopathogenic fungi associated with certain scale insects (Hemiptera: Coccoidea) in Egypt. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences 5(3): 211-221.
16. Feng M., Johnson J.B., and Kish L.P. 1990. Virulence of *Verticillium lecanii* and an aphid derived isolate of *Beauveria bassiana* (Fungi: Hyphomycetes) for six species of cereal-infesting aphids (Homoptera: Aphididae). Environmental Entomology 19(3): 815-820.
17. Ghidan A.Y., Al-Antary T.M., and Awwad A.M. 2016. Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Punica granatum* peels extract: Effect on green peach aphid. Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management 6: 95-98.
18. Gurulingappa P., McGee P.A., and Sword G. 2011. Endophytic *Lecanicillium lecanii* and *Beauveria bassiana* reduce the survival and fecundity of *Aphis gossypii* following contact with conidia and secondary metabolites. Crop Protection 30(3): 349-353.
19. Harper S. 2010. New approaches needed to gauge safety of nanotech-based pesticides, Researchers Urge. Physics and Chemistry 4(33): 2010-2012.
20. Helle W., and Overmeer W.P.J. 1985. Toxicological test methods. In: W. Helle & Sabelis, M.W. (eds.), Spider Mites: their Biology, Natural Enemies and Control. Elsevier. Amsterdam. Oxford. New York. Tokio. 1: 391-395.
21. Hersanti Susanto A., Virgiawan R., and Joni I.M. 2018. The effectiveness of *Penicillium* sp. mixed with silica nanoparticles in controlling *Myzus persicae*. In: American Institute of Physics Conference Series. 1927(1).
22. Kassa A. 2003. Development and testing of mycoinsecticides based on submerged spores and aerial conidia of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for control of locusts, grasshoppers and storage pests. Doctoral Dissertation. Georg-August-University Gottingen. (Germany)
23. Laing M.D., Gatarayiha M.C., and Adandonon A. 2006. Silicon use for pest control in agriculture: a review. In: Proceedings of the South African Sugar Technologists' Association 80: 278-286.
24. Meyling N.V., and Eilenberg J. 2007. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control. Biological Control 43(2): 145-155.
25. Modarres-Najafabadi S.S., Akbari-Moghaddam H., and Gholamian G. 2005. Population fluctuations of cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) and identification of its natural enemies in Sistan region. Iranian Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources 8(4): 175-185. (In Persian with English abstract)
26. Mweke A., Ulrichs C., Nana P., Akutse K.S., Fiaboe K.K.M., Maniania N.K., and Ekesi S. 2018. Evaluation of the Entomopathogenic Fungi *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* and Isaria sp. for the Management of *Aphis craccivora* (Hemiptera: Aphididdae). Journal of Economic Entomology 111(4): 1587-1594.
27. Oerke E.C., and Dehne H.W. 2004. Safe guarding production-losses in major crops and the role of crop protection. Crop Protection 23(4): 275-285.
28. Pavitra G., Sushila N., Sreenivas A.G., Ashok J., and Sharanagouda H. 2018. Biosynthesis of Green Silica Nanoparticles and Its Effect on Cotton Aphid, *Aphis gossypii* Glover and Mealybug, *Phenacoccus solenopsis* Tinsley. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 7(10): 1450-1460.
29. Qayyum A. 2021. Effects of host age on two closely related parasitoid species *Diaeretiella rapae* (McIntosh) and *Aphidius colemani* (Vireck) (Aphidiidae: Hymenoptera). Pakistan Journal of Zoology 33: 193-200.
30. Quesada-Moraga E.E.A.A., Maranhao E.A.A., Valverde-García P., and Santiago-Álvarez C. 2006. Selection of *Beauveria bassiana* isolates for control of the whiteflies *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* on the

basis of their virulence, thermal requirements, and toxicogenic activity. Biological Control 36(3): 274-287.

31. Rannback L.M., Cotes B., Anderson P., Ramert B., and Meyling N.V. 2015. Mortality risk from entomopathogenic fungi affects oviposition behavior in the parasitoid wasp *Trybliographa rapae*. Journal of Invertebrate Pathology 124: 78-86.
32. Rehner S.A., and Buckley E. 2005. A Beauveria phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1-a sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps teleomorphs*. Mycologia 97(1): 84-98.
33. Rouhani M., Samih M.A., and Kalantari S. 2013. Insecticidal effect of silica and silver nanoparticles on the cowpea seed beetle, *Callosobruchus maculatus* F. (Col.: Bruchidae). Journal of Entomological Research 4: 297-305.
34. Satar S., Kersting U., and Ulvsoy M.R. 2005. Temperature dependent life history traits of *Brevicoryne brassicae* (Hom.: Aphididae) on white cabbage. Turkish Journal of Agriculture 29(5): 341-346.
35. Serebrov V.V., Gerber O.N., Malyarchuk A.A., Martemyanov V.V., Alekseev A.A., and Glupov V.V. 2006. Effect of Entomopathogenic Fungi on detoxification enzyme activity in reater wax moth *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) and role of detoxification enzymes in development of insect resistance to entomopathogenic fungi. Biological Bulletin 33(6): 581-586.
36. Singh R., and Singh G. 2015. Systematics, distribution and host range of *Diaeretiella rapae* (McIntosh) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae). International Journal of Research Studies in Biosciences 3(1): 1-36.
37. Taheri Sarhozaki M., Aramideh S., Akbarian J., and Pirsa S. 2020. The effect of zinc oxide nanoparticles, kaolin powder and *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin in combination with neemarin against *Bemisia tabaci* and pupae of *Eretmoceru smundus* under field conditions. Plant Protection 43(3): 97-115. (In Persian with English abstract)
38. Wraight S.P., Carruthers R., Bradley C.A., Jaronski S.T., Lacey L.A., Wood P., and Galaini-Wraight S. 1998. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi Paecilomyces spp. and *Beauveria bassiana* against the silver leaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. Journal of Invertebrate Pathology 71(3): 217-226.
39. Zavareh M., and Emam Y. 2000. An identification guide for rapeseed (*Brassica napus* L.) developmental stages. Iranian Journal of Crop Sciences 2(1): 1-14. (In Persian with English abstract)
40. Ziaee M., and Hamzavi F. 2014. Application of nanoparticles in pest management programs. Nanotechnology 10: 18-23. (In Persian)

Journal of Plant Protection
Vol. 35, No. 3, Fall 2021, P. 333-345

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۰، ص. ۳۴۵-۳۳۳

Lethal Effects of Fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) and Nanosilica on Cabbage Aphid *Brevicoryne brassicae* (L.) and Its Parasitoid *Diaeretiella rapae* (McIntosh) in Laboratory Conditions

S. Emami [1]- S. Aramideh[2]*- S. Pirsa[3]- J.P. Michaud[4]
Received: 12-06-2021
Accepted: 11-07-2021

Introduction: Cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (L.), is one of the most important and harmful pests of crucifers, which is active in many parts of Iran and causes quantitative and qualitative damage in the cultivation of these plants during the winter. Some natural enemies such as the parasitoid wasp *Diaeretiella rapae* (McIntosh) are active on this pest. The indiscriminate use of insecticides for controlling pests caused evolution of pest resistance, environmental pollution and negative effects on natural enemies and beneficial insects. In recent years, environmentally compatible factors have received more attention due to less side effects in pest control. This study was carried out to determine the effects of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.), and nanosilica separately and in combination on survival of the cabbage aphid and its parasitoid treated by different concentrations of fungus (10^3, 10^4, 10^5, 10^6 and 10^7spore/ml) and nanosilica (125, 250, 500, 1000 and 2000 ppm).

Material and Methods: Cabbages (*Brassica olearaceae* var. *capitata*) were grown from seed in plastic flower pots. Aphids were collected from Brassicaceae plants in fields of Nazlo Campus of Urmia University near Urmia city. This colony was used as a source for all aphids used in all laboratory experiments. Also, a colony of *D. rapae* was reared on *B. brassicae* under greenhouse conditions. Wasps were fed a 10% honey solution and used to parasitize aphids, or for use in experiments, 24 hours later.Fungi was cultured on Sabouraud Dextrose Agar (SDA) in petri dishes (6 cm in diameter) and incubated for two weeks to induce sporulation. Spores were harvested from the surface of 14-day old culture and transferred to a test tube containing sterilized distilled water with 0.05% Tween®-80. The conidial concentration of final suspension was determined by direct count using a neubauer hemocytometer and serial dilutions were made to obtain different conidial concentrations. Sio_2 nanoparticles of pashgamannano® company was used in bioassay tests. Bioassay test was carried out on aphid and its parasitoid. Aphids were treated by conidial concentrations using dipping method. Control adults were treated with distilled water containing 0.05% Tween®-80. In order to evaluate the effect of nanosilica on aphids, leaf discs were dipped in to different concentrations of nanosilica and after drying, adult cabbage aphids were transferred on treated leaf discs in Petri dishes. The mortality was counted 24, 48 and 72 hours after treatment. Experiments were carried out at 25±2 C° temperature, 65±5% RH and a photoperiod of 16: 8 h. (L: D) under laboratory conditions. LC_{25}, LC_{50} and LT_{50} values of fungi and nanosilica were estimated. Also, combination effects of fungi and nanosilica were evaluated in laboratory. A preliminary test was evaluated to determine side effects of different concentrations of nanosilica on viability and germination of fungi spore. Germination rate for fungi was calculated after 24 hours. The LC_{25}, LC_{50} and LT_{50} values (with 95% confidence limits) were calculated using the Probit analysis method. Bioassay data were subjected to one-way analysis of variance (ANOVA) after checking for normality and means were compared by Tukey's test.

Results and Discussion: The LC_{50} values obtained from the analysis of probit as a result of the effect of different concentrations of *B. bassiana* 7 days after treatment and nanosilica 24, 48 and 72 hours after treatment on cabbage aphid were 2.2×10^5 spore/ml and 4356.14, 1164.42, 487.19 ppm, respectively. Furthermore the LC_{50} values of *B. bassiana* 4 days after treatment and nanosilica 24, 48 and 72 hours after treatment on *D. rapae* were 1.2×10^6 spore/ml and 3639.79, 619.51, 289.77 ppm, respectively. Results showed that the adults of the cabbage aphid were completely sensitive to the fungal isolate. The shortest time needed for the mortality of 50% of the population of cabbage aphid was 5.02 days at 10^7 conidia/ml concentration. The mortality rate of nanosilica at highest concentration, 72 hours after treatment was 90 and 96.6% respectively for cabbage aphid and parasitoid

1, 2 and 3- Ph.D. Student and Associate Professors of Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: Sh.aramideh@urmia.ac.ir)
4- Professor of Department of Entomology, Kansas State University, Agricultural Research Center-Hays, Hays, KS, USA
DOI: 10.22067/JPP.2021.70807.1030

wasp. Also, combination of these factors against adults of cabbage aphid had significant difference with control.

Conclusion: According to the results of this study, it can be concluded that *B. bassiana* and nanosilica are effective on cabbage aphid and can be used as effective factors in the integrated pest management program of this pest.

Keywords: Cabbage aphid, Entomopathogenic fungi, None-chemical control, Parasitoid